

Über die Häufigkeit der Galaktosämie in einem westungarischen Bezirk

Vorgelegt

von

Georg Johann Schwindler

aus

Neunburg vorm Wald

1976

1977 № 33



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Kinderklinik der
Universität Erlangen-Nürnberg
Direktor: Professor Dr. med. A. Windorfer

ÜBER DIE HÄUFIGKEIT DER GALAKTOSÄMIE
IN EINEM WESTUNGARISCHEN BEZIRK

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

dem

Fachbereich Medizin

der

Friedrich-Alexander-Universität

Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von

GEORG JOHANN SCHWINDLER

aus

Neunburg vorm Wald

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan:	Professor Dr. med. E. Rügheimer
Referent:	Professor Dr. med. F.C. Sitzmann
Korreferent:	Professor Dr. med. A. Windorfer

Tag der mündlichen Prüfung: 16. Dezember 1976

MEINEN ELTERN
UND
MEINER GELIEBTEN FRAU

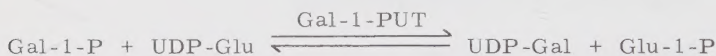
INHALT

1.	Einleitung	1
1.1.	Stoffwechsel der Galaktose	1
1.2.	Krankheitsbild der Galaktosämie	3
2.	Eigene Untersuchungen	6
2.1.	Fragestellung	6
2.2.	Untersuchungsgut (Probanden Westungarn)	7
2.3.	Methodik	7
2.3.1.	Verschiedene Bestimmungsmöglichkeiten	7
2.3.2.	Angewandte Untersuchungsmethode	10
2.4.	Diskussion der Methode	15
2.4.1.	Stabilität der Gal-1-PUT	15
2.4.2.	Reproduzierbarkeit	16
2.5.	Ergebnisse eigener Untersuchungen	17
2.5.1.	Normalwerte	17
2.5.2.	Genfrequenz- Berechnung	22
3.	Diskussion der erhobenen Befunde	24
4.	Zusammenfassung	31
5.	Literaturverzeichnis	32

1. EINLEITUNG

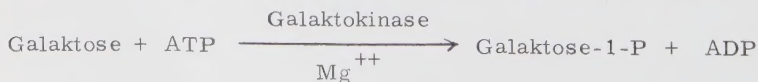
1.1. Stoffwechsel der Galaktose

REUSS beschrieb im Jahre 1908 erstmals das klinische Erscheinungsbild der Galaktosämie⁴⁰⁾. Die Vermutung von GÖPPERT und MASON²⁰⁾, daß es sich bei diesem typischen Krankheitsbild um eine angeborene Stoffwechselerkrankung handelt, konnte durch ausführliche Untersuchungen von KOMROWER und SCHWARZ bestätigt werden³³⁾. Erst im Jahre 1957 gelang es KALCKAR und seinen Mitarbeitern, den bei diesem Krankheitsbild vorliegenden Enzymdefekt eindeutig zu bestimmen²⁵⁾. Es handelt sich um das Enzym Galaktose-1-Phosphaturidyltransferase (Gal-1-PUT, E.C. 2.7.7.12), welches im Galaktosestoffwechsel folgende Reaktion katalysiert:



Bei der klassischen Galaktosämie fehlt dieses Enzym oder ist in seiner Aktivität so weit gemindert, daß es mit den derzeit üblichen Labormethoden kaum nachzuweisen ist²⁹⁾. Als Folge des verminderten Umbaus von Galaktose-1-P zu UDP-Galaktose sammelt sich Galaktose und Galaktose-1-P im Körper an und wirken toxisch auf andere Stoffwechselwege. Der Abbau der Galaktose bei normaler Aktivität der Gal-1-PUT erfolgt über den Leloirabbauweg.

Galaktose und Glucose unterscheiden sich sterisch in der Konfiguration am 4. C-Atom. Als freies Monosaccharid kommt Galaktose nur kurzzeitig nach der Resorption im Blut vor, hat jedoch als chemische Verbindung eine sehr große Bedeutung (Glykoproteine, Cerebrolipide, Ganglioside)¹⁶⁾. Der erste Schritt des Leloirabbauweges ist die Aktivierung der Galaktose durch energiereiches Phosphat in Analogie zur Hexokinase:



Diese Reaktion ist nicht umkehrbar. In einem zweiten Reaktionsschritt überträgt das Ferment Uridyltransferase Uridin-Diphosphat (UDP) vom Glucosemolekül auf das Galaktosemolekül:



Unter der Einwirkung einer Epimerase und NAD wird in einem dritten Reaktionsschritt UDP-Galaktose zu UDP-Glucose umgewandelt:



Diese Epimerisation findet am vierten Kohlenstoffatom statt, wahrscheinlich in Form einer Oxydo-Reduktion unter Mithilfe von NAD als Wasserstoffüberträger. Schließlich wird UDP-Glucose durch eine Pyrophosphorylase in Glucose-1-P überführt:



Dieses Endprodukt wird entweder zur Synthese von Glykogen verwendet oder geht über Glucose-6-P in den Embden-Meyerhoff-Stoffwechsel²¹⁾. Neben diesem beschriebenen Stoffwechselweg gibt es noch einen Umgehungsweg, der von DE LEY und DOUDOROFF erstmals beschreiben und von SEGAL für den menschlichen Organismus nachgewiesen wurde⁴⁵⁾.

Diese Stoffwechselwege sind in Abb. 1 nochmals in der Übersicht zusammengestellt.

Die schwere akute Form, die binnen weniger Tage unbehandelt zum Tode führt. Zunehmende Trinkunlust mit Erbrechen, Gewichtsverlust bis zur Dystrophie, Hepatosplenomegalie mit Ikterus, aufgetriebenes Abdomen, Durchfälle und zerebrale Krämpfe sind die klinischen Symptome.

Die leichte protrahierte Form der Galaktosämie wird meist lange nicht erkannt, da beim Neugeborenen keine akuten Symptome auftreten. Es bildet sich aber trotzdem langsam ein Leberschaden aus; ebenso können auch Katarakte und Schwachsinn entstehen.

Die subklinische inapparente Form macht sich häufig erst im späten Alter bemerkbar. Im Säuglingsalter hatten diese Personen gastrointestinale Störungen und später Abneigung gegen Milch ⁵⁰⁾.

Die Therapie besteht in galaktosefreier Ernährung, wonach die Symptome prompt verschwinden. SCHREIER hat vor mehreren Jahren eine Nahrung zusammengestellt, welche sich sehr gut bewährt ⁵¹⁾. Es gibt auch im Handel Fertigzubereitungen wie Lactopriv, Sojabasan, Nutramigen, Solactin und Gerber MBF Aledin, die auf Sojabasis aufgebaut sind.

Diese galaktosefreie Kost setzt keine Zerebralschäden, da zerebrale Galaktolipide auch ohne exogene Galaktosezufuhr aufgebaut werden ⁴⁸⁾.

Die toxische Verbindung, welche die bekannten Schäden verursacht, ist nach neueren Untersuchungen Galaktitol. QUAN-MA stellte fest, daß Galaktitol in fast allen Geweben gebildet werden kann und dort auch kumuliert, besonders in der Augenlinse, im Gehirn, im Skelett- und Herzmuskel ³⁹⁾. Da das Enzym Galaktose-1-Phosphaturidyltransferase fehlt, wird Galaktose-1-Phosphat nicht zu UDP-Galaktose umgebaut, sondern durch das Enzym Aldosereduktase zu Galaktitol oxydiert. Das sich anstauende Galaktose-1-Phosphat hemmt vermutlich das Enzym Phosphoglucomutase und infolgedessen die Glucoseverwertung. So kann die bei Galaktosezufuhr an homozygot Kranke auftretende Hypoglykämie als Noxe, vor allem für das Gehirn angesehen werden ⁴⁹⁾.

Die Prognose der Erkrankung hängt von der Schwere der klinischen Symptome und vom Therapiebeginn ab. FLEKOVA M. ¹⁷⁾ berichtet von

Fällen, in denen trotz frühzeitiger Diagnose und Therapie eine zerebrale Schädigung manifest wurde, die bereits intrauterin durch Milchgenuß der heterozygoten Mutter eintrat. Auch KALoud und SITZMANN konnten dies bei eigenen Untersuchungen in einer Sippe mit Erkrankungen an Galaktosämie bestätigen ²⁶⁾.

Ist in einer Familie bereits ein Kind an Galaktosämie erkrankt, sollte bei folgenden Schwangerschaften sofort eine entsprechende Prophylaxe eingeleitet werden: die Mutter muß sich unter allen Umständen während der Schwangerschaftsmonate milchfrei ernähren. Auch sollte bei dem geringsten Verdacht auf das Vorliegen einer Galaktosämie sofort prophylaktisch milchfrei ernährt werden, bis das Ergebnis der Aktivitätsbestimmung der Gal-1-PUT vorliegt. Außerdem sollte eine genaue Familienanamnese erstellt werden, da sich hieraus wichtige Gesichtspunkte für die genetische Beratung ergeben.

2. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

2.1. Fragestellung

Es handelt sich bei der Galaktosämie um ein autosomal-rezessives Erb-leiden mit verschieden starker Penetranz der Symptome. Dafür spricht, daß sich die Galaktosämie nur bei homozygoten Genträgern manifestiert, während die heterozygoten Genträger phänotypisch gesund sind. Sie wei-sen aber in etwa die Hälfte der normalen Enzymaktivität auf, so daß man auf Grund dieser Tatsache einen verlässlichen Heterozygotentest zur Ver-fügung hat ²⁸⁾. Die Krankheit tritt gehäuft bei Verwandtenehen auf und wird in Gegenden mit vermehrt vorkommenden Ehen solcher Art häufiger sein als in einer Bevölkerung mit Panmixie.

KALOUD und SITZMANN berichteten von zwei Galaktosämie-Geschwi- stern, deren Eltern blutsverwandt waren. In diesem Fall handelt es sich um eine Vetternehe 2.Grades ²⁶⁾. Folgedessen kann in einem Reservat mit einem vermehrten Auftreten von autosomal-rezessiven Erbkrankhei- ten gerechnet werden. Wir hatten Gelegenheit, in einem solchen Reservat in Westungarn entsprechende Untersuchungen vorzunehmen. Hier sind im Reservat B u c s u vor allem Zigeuner angesiedelt worden, bei denen zudem die Galaktosämie gehäuft beobachtet werden soll. Die hier erho-benen Befunde konnten mit denen aus der ungarischen Normalbevölkerung in der Umgebung des Reservats (Westungarn) verglichen werden, so daß damit eine exakte Aussage hinsichtlich möglicher unterschiedlicher Genfrequenzen angestellt werden konnte.

Es stellte sich zudem die Frage, ob heterozygote Genträger des für die Störung verantwortlichen Gens an irgendwelchen Mikrosymptomen er- kannt werden können. Da das Enzym außer in der Leberzelle auch in den Erythrozyten nachweisbar ist, kann es relativ leicht im Hämolysat der Probanden bestimmt werden ¹⁹⁾. Die sicherste Methode zur Diagnose- stellung der Galaktosämie ist die Aktivitätsbestimmung der Gal-1-PUT.

2. 2. Untersuchungsgut

Die Probanden stammten aus Südwest-Ungarn und zwar aus dem Reservat Bucsú und dem umliegenden Gebiet im Komitat Vas. Von den 496 Blutproben, die zur Untersuchung zur Verfügung standen, stammten 140 von den Probanden aus Bucsú, 356 von den Probanden aus dem Komitat Vas. Die Blutentnahme erfolgte im Rahmen ausgedehnter, vorgeschriebener Vorsorgeuntersuchungen in Bucsú, sowie bei Blutspendeaktionen. Probanden mit Leberschäden wurden für diese Untersuchungen eliminiert. Unter den Blutproben fanden sich auch solche von geistig Retardierten und Blinden (angeborene Katarakte). Die geistig Retardierten und Blinden blieben aber in der Auswertung für unsere Fragestellung unberücksichtigt, da Katarakte und geistige Retardierung bereits typische Symptome einer Galaktosestoffwechselstörung darstellen können. Auf eine Geschlechtsaufteilung wurde verzichtet, da eine geschlechtsspezifische Enzymaktivität der Gal-1-PUT nicht bekannt ist²⁹⁾. Das Blut wurde in regelmäßigen Abständen bei den genannten Probanden abgenommen, am gleichen Tage an der Grenze zu Österreich übergeben und dann per Expres nach Erlangen gesandt. Somit standen die Blutproben bereits 2 Tage nach Abnahme zur Untersuchung im Enzymlabor der Erlanger Kinderklinik zur Verfügung. Durch die kurze Transportdauer trat somit keine Einbuße in der Fermentaktivität durch Altern auf, wie durch eigene Untersuchungen nachgewiesen werden konnte.

2. 3. Methodik

2. 3. 1. Verschiedene Bestimmungsmöglichkeiten

Von den vielen in der Literatur beschriebenen Nachweismethoden des Enzymdefekts kommen zur Bestimmung der Genfrequenz in einer Bevölkerung nur quantitative Verfahren in Frage, da nur diese zur Erfassung Heterozygoter geeignet sind. Aus der Anzahl der Fälle der Heterozygoten wird dann auf die Homozygotenfrequenz umgerechnet.

a) Screening-Methoden:

Die von GUTHRIE angegebene Methode beruht auf der Hemmung des Wachstums des *Escherichia coli*-Stammes W-3101 in Relation zur Galaktosekonzentration. Mit diesem Test untersuchte SHIH et al. in Massachusetts 177 882 Kinder und fanden dabei nur einen Homozygoten⁴⁷⁾. Während der Guthrie-Test qualitative und quantitative Ergebnisse liefert, läßt sich der von BEUTLER et al. entwickelte Test, der auf dem Nachweis der Transferaseaktivität basiert, in einer Modifikation auch quantitativ nützen, dessen Prinzip auf folgender gekoppelter Reaktion beruht: Gal-1-P reagiert mit UDP-Glucose in Gegenwart von Gal-1-PUT. Es entsteht UDP-Galaktose und Glucose-1-P. Diese wird durch die Phosphoglucomutase in Glucose-6-P verwandelt und in Gegenwart von Glucose-6-P-dehydrogenase zu 6-Phosphogluconsäure oxidiert. Dabei wird NADP, die nicht fluoreszierende Form, zu NADPH, der fluoreszierenden Form, reduziert. Blutproben galaktosämischer Patienten haben keine bzw. nur eine geringe Transaminaseaktivität, darum fluoreszieren diese Teststreifen nicht. In der modifizierten Farbstoffmethode wird NADPH reoxidiert und die Transformation des zugesetzten Methylenblaus in seine Leukoform erlaubt die Messung der Enzymaktivität²³⁾. Diese Methode kann nicht nur zur Erfassung von Galaktosämikern, sondern möglicherweise auch von Heterozygoten verwendet werden. Dieser Test wird derzeit erprobt.

b) Isotopenmethodik:

Das von WEINBERG 1961 beschriebene Verfahren ermöglicht die Erfassung von galaktosämischen Patienten und ihren Erbträgern. Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Messung des aus Galaktose-1-C¹⁴ gebildeten C¹⁴O₂. Während bei galaktosämischen Patienten die Fähigkeit Galaktose-1-C¹⁴ zu C¹⁴O₂ zu oxidieren unter 0,3 % liegt, beträgt sie bei Stoffwechselgesunden 10 bis 20 %. Mit dieser Methode lassen sich auch Heterozygote eruieren⁵⁵⁾.

Eine noch spezifischere Methode beschrieb ROBINSON ⁴¹⁾. Sie besteht aus einer Kombination von Papierchromatographie und Flüssigkeits-Szintillationszählung.

c) Gasometrische Methoden:

KIRKMAN und BYNUM ³¹⁾ entwickelten diese Technik zur Bestimmung der Gal-1-PUT -Aktivität im Blut für die Warburg-Apparatur. Trotz der großen Genauigkeit hat sich diese Methode nicht durchsetzen können. Die Gründe dürften sein, daß sie zu umständlich und zu teuer ist. SCHWARZ ⁵²⁾ beschrieb ein weiteres Verfahren, das aber bestenfalls semiquantitativ ist und daher nicht zur Erfassung Heterozygoter herangezogen werden kann.

d) Photometrische Methode:

Von allen enzymatischen Nachweisverfahren ist der UDP-Glucose-Konsumptionstest am weitesten verbreitet. Diese von ANDERSON ¹⁾ und später von BRETTHAUER ¹²⁾ angegebene Methode wurde von BEUTLER so modifiziert, daß damit auch heterozygote Anomalieträger genau bestimmt werden können. Bei dieser Methode wird die UDP-Glucose vor und nach einer Inkubation eines Erythrozytenhämolysates mit UDP-Glucose und Galaktose-1-phosphat bestimmt. Die in der Zeiteinheit verbrauchte Menge von UDP-Glucose gilt als Maß für die Aktivität der Uridyltransferase. Diese Methode wurde auch bei den hier vorgenommenen Untersuchungen angewandt, unter Verwendung einer modifizierten Vorschrift der Firma SIGMA CHEMICAL, welche detailliert wiedergegeben werden soll.

2.3.2. Angewandte Untersuchungsmethode

Die Aktivität der Gal-1-PUT wurde im Erythrozytenhämolysat bestimmt.

a) Herstellung des Hämolysates:

2,0 ml venösen Blutes wurden nach Entnahme mit 0,5 ml ACD-Stabilisator versetzt und gemischt.

Er hat folgende Zusammensetzung:

Zitronensäure	4,7 g
Trinatriumzitat	16,0 g
Glucose	25,0 g
Aqua dest.	ad 1000 ml

In diesem Zustand wurden die Blutproben versandt.

0,5 ml dieses Blutes werden mit ungefähr 5 ml physiologischer Kochsalzlösung versetzt und etwa 5 Minuten bei 2-3000 U/min zentrifugiert. Diesen Vorgang wiederholt man 2 - 3 mal, wobei der Überstand jedesmal sorgfältig abgesaugt wird. Die so gewaschenen Erythrozyten werden mit 0,65 ml Aqua bidest. hämolysiert und für 45 Minuten bei -20°C tiefgefroren. Anschließend werden die Proben langsam aufgetaut und dann zur Absonderung des Erythrozyten-Stromas ungefähr 5 Minuten zentrifugiert. Das gewonnene Hämolysat wird abgesondert.

b) Hämoglobinbestimmung:

Von dem so erhaltenen Hämolysat wird der Hämoglobingehalt nach der modifizierten Drabkin'schen Methode bestimmt; zu dieser Bestimmung benötigt man eine sog. Transformationslösung.

Sie hat folgende Zusammensetzung:

Natriumhydrogenkarbonat	1,0 g
Kaliumferrocyanid	0,2 g
Kaliumcyanid	0,05 g
Aqua bidest.	ad 1000 ml

Hb -Bestimmung:

5,0 ml Transformationslösung wird in ein Reagenzglas pipettiert. Zu dieser Lösung gibt man 0,05 ml Hämolytat, mischt sorgfältig und mißt nach frühestens 10 Minuten die Extinktion im Eppendorf-Photometer mit Makroküvette ($d=1\text{ cm}$) und großer Blende gegen Wasser bei einer Wellenlänge von 546 nm. Die Berechnung erfolgt mit Hilfe des Extinktionskoeffizienten von Hb = 11000 und dem Molekulargewicht $MG = 16114$. Die abgelesene Extinktion (E) wird mit dem Faktor 0,148 multipliziert.

$$\text{Ext.} \times 0,148 = \text{g Hb/ml}$$

c) Aktivitätsbestimmung der Gal-1-PUT :

Folgende Lösungen fanden Verwendung:

Glycinpuffer, 1,0 M, pH 8,7 (Sigma)

UDPG-Natriumsalz (Sigma). Die gebrauchsfertige Lösung wird zubereitet, indem man 25 ml in 5 ml Aqua bidest. löst.

Galaktose-1-P (Sigma). Hiervon werden 30 mg in 10 ml Aqua bidest. gelöst.

NAD 0,0136 M (Boehringer). Zur Herstellung der gebrauchsfertigen Lösung gibt man 500 mg NAD in ungefähr 30 ml Aqua bidest., bringt den Ansatz mit 0,2 n NaOH auf pH 7 und füllt mit destilliertem Wasser auf 50 ml auf.

UDPG-Dehydrogenase (Sigma)

UDPG-Glycin-Mischung. Diese Lösung muß täglich frisch hergestellt werden. Man mischt 0,2 ml Glycinpuffer mit 0,05 ml UDPG-Lösung.

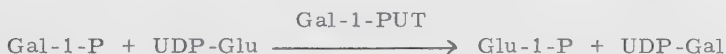
Von dieser UDPG-Glycin-Mischung pipettiert man je 0,1 ml in Plastikzentrifugenröhrchen. Dabei ist darauf zu achten, daß die Röhrchen gut schließen und sich beim späteren Kochen des Inhalts durch Überdruck nicht öffnen. Pro Untersuchung benötigt man 2 Röhrchen. Das erste

enthält das Reaktionsgemisch und wird auch als solches gekennzeichnet. Diesem werden 0,05 ml Gal-1-P-Lösung zugefügt, im zweiten Röhrchen wird die Gal-1-P-Lösung durch 0,05 ml Aqua bidest. ersetzt. Zu jedem der Ansätze pipettiert man mit einer Eppendorff-Pipette 0,1 ml Hämolysat.

Man untersucht also zwei Ansätze:

- 1) 0,1 ml UDPG-Glycin + 0,05 ml Gal-1-P
+ 0,1 ml Hämolysat
- 2) 0,1 ml UDPG-Glycin + 0,05 ml Aqua bidest.
+ 0,1 ml Hämolysat

Diese Ansätze werden bei 37°C in einem Wärmeblock genau 15 Minuten inkubiert. Die Zeitmessung beginnt mit der Zugabe des Hämolysates. Dabei läuft folgende Reaktion ab:



Nach der Inkubationszeit wird in jedes Zentrifugenröhrchen 0,5 ml eiskaltes Aqua bidest. gegeben und dann anschließend für 2 Minuten in kochendes Wasser gestellt. Durch die Erhitzung koaguliert das Eiweiß und die Reaktion wird unterbrochen. Anschließend erfolgt eine zehnmünütige Abkühlung im Eisbad. Nach fünfminütigem Zentrifugieren in der Mikrozentrifuge setzt sich das Koagulum ab. Der klare Überstand wird folgendermaßen weiterverarbeitet:

In je 2 Plastikröhrchen pipettiert man folgende gleiche Lösungen:

- 0,2 ml Überstand aus 1) bzw. 2) + 0,15 ml Glycinpuffer
+ 0,1 ml NAD + 0,45 ml Aqua bidest.

Der Überstand des 1. Röhrchens entstammt dem Ansatz, welcher Gal-1-P enthielt, der des 2. Röhrchens dem Ansatz, der Wasser enthielt. Die verbliebene, von Gal-1-PUT nicht umgesetzte Menge an UDP-Glucose wird nun im optischen Test mit Hilfe der UDPG-Dehydrogenase und NAD nach folgendem Prinzip bestimmt:



Dieser Schritt, nämlich die Reduktion von NAD zu NADH erlaubt indirekt die photometrische Messung der Enzymaktivität, da NADH im Gegensatz zu NAD eine hohe Absorption bei der Wellenlänge 340 bzw. 366 nm besitzt.

Zur Messung der Reaktion wird beiden Ansätzen je 0,1 ml UDPG-Dehydrogenase zugesetzt. Dabei hat es sich als vorteilhaft erwiesen, folgenden Rhythmus einzuhalten:

Man pipettiert zur 1. Probe 0,1 ml UDPG-Dehydrogenase und beginnt in diesem Zeitpunkt mit der Zeitmessung,

nach 15 sek. pipettiert man zur Probe 2 0,1 ml UDPG-Dehydrogenase,

nach 30 sek. gießt man Probe 1 in die Meßküvette,

nach 45 sek. gießt man Probe 2 in die Meßküvette,

nach 60 sek. liest man die Extinktion der 1. Probe ab,

nach 75 sek. liest man die Extinktion der 2. Probe ab.

Die Messungen werden mit einem Eppendorff-Spektrallinienphotometer mit großem Tubus, mittlerer Blende und einem Filter von 340 nm vorgenommen, in temperierbaren Halbmikroküvetten (37°C) von 1 cm Schichtdicke. Die Nullpunkteinstellung erfolgt bei der Messung gegen Luft. Nach 30-40 Minuten kann die Endpunktsextinktion abgelesen werden, da das Maximum der Extinktionsänderung erreicht ist. Da bei Zugabe des Enzyms UDP-Gluc-Dehydrogenase keine Trübung des Ansatzes eintritt, ist eine Korrekturberechnung nicht erforderlich. Bei Überschuß der Substrate sowie der Indikator- und Hilfsenzyme ist die zeitliche Zunahme der Extinktion der Aktivität der Uridyltransferase proportional.

d) Berechnung:

Die Aktivität der Gal-1-PUT im Erythrozytenhämolysat wird in Einheiten (Units) ausgedrückt, bezogen auf den Hämoglobingehalt des Häm-

lysates. Die Einheit ist nach BEUTLER folgendermaßen definiert:

Eine Einheit ist die Enzymmenge, welche in 1 Stunde bei 37°C den Umsatz von 1 μMol UDPG verursacht ⁶⁾. Die Aktivitätseinheiten der Gal-1-PUT, ausgedrückt in μMol UDPG / gHb, wird nach folgender Formel berechnet:

$$U / \text{gHb} = \frac{E_1 - E_2}{\text{gHb/ml}} \times 12,1$$

Dabei bedeuten:

U / gHb : Einheiten der Enzymaktivität pro Gramm Hämoglobin;

E_1 = Extinktionsänderung des Leerwertes;

E_2 = Extinktionsänderung des Reaktionssystems.

Die Extinktionsänderung wird errechnet, indem man die Anfangsextinktion, die nach 1 Minute abgelesen wurde, von der Endpunktsextinktion, die nach 30 Minuten abgelesen wurde, subtrahiert.

$$E_1 = E_1'' - E_1'$$

Gleiches gilt für E_2 .

Der Faktor (F) 12,1 berechnet sich aus dem Verdünnungsfaktor (V = 3,75), dem Umrechnungsfaktor ($F_u = 20$) und dem Extinktionskoeffizienten (Ext. = 6,2) bei 340 nm.

$$F = \frac{V \times F_u}{\text{Ext.}}$$

2.4. Diskussion der Methode

2.4.1. Stabilität der Gal-1-PUT

Es wurde ACD-Puffer verwendet, der sich für die Aktivitätsuntersuchung der Erythrozytenenzyme recht gut eignet, da er keine Phosphatverbindung enthält. ORLINA und auch MAYER konnten zeigen, daß im ACD-Puffer die Aktivität aller Enzyme über 48 Stunden, auch bei Aufbewahrung bei Zimmertemperatur konstant ist^{35, 38)}. Bei Aufbewahrung im ACD-Stabilisator, EDTA-Puffer oder Heparin konnte BEUTLER innerhalb von 35 Tagen keine signifikante Aktivitätsänderung feststellen. Auch bei Zimmertemperatur gelagerten Proben konnte meist eine volle Aktivitätsstabilität der Gal-1-PUT gemessen werden (Abb. 2).

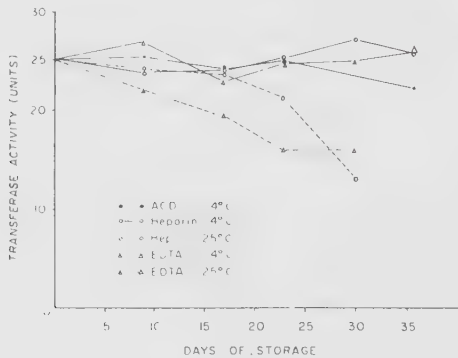


Abb. 2 : Die Stabilität der Gal-1-PUT in Blutproben bei verschiedenen Stabilisatoren und Temperaturen⁶⁾.

Sogar hämolysiertes Blut oder tiefgefrorene, gepackte Erythrozyten können mehrere Tage aufbewahrt werden. Dennoch empfiehlt BEUTLER die Aufbewahrung von Gesamtblut⁶⁾.

Hämolysat ist nach unseren eigenen Erfahrungen weniger für die Langzeitaufbewahrung geeignet, da Aktivitätsverluste bis zu 30 % zu verzeichnen sind, auch nach Tiefkühlung bei -20°C . Die Enzymuntersuchung im Blut der Probanden aus dem Reservat Bucsu und der Vergleichsprobanden wurde mit Hilfe dieses UDP-Glucose-Konsumptionstests vorgenommen. Die sehr empfindliche Isotopenmethode konnte aus technischen Gründen nicht durchgeführt werden. Wenn auch mit dem UDP-Glucose-Konsumptionstest Überlappungen zwischen Enzymwerten Heterozygoter mit relativ hoher Gal-1-PUT-Aktivität und Gesunden bekannt sind, so können trotzdem für klinische Zwecke hinreichend genau die heterozygoten Merkmalsträger von gesunden Probanden unterschieden werden.

2.4.2. Reproduzierbarkeit

Dieser technisch relativ komplizierte UDP-Glucose-Konsumptionstest kann erst nach einer Einarbeitungszeit sicher angewendet werden. Um die Genauigkeit der eigenen Messungen und somit die Aussagekraft des Tests beurteilen zu können, wurde eine Testreihe mit Eigenblut vorge-schaltet. Aus einer Blutprobe wurde an vier aufeinanderfolgenden Tagen in jeweils 12 gleichzeitig angesetzten Proben die Aktivität der Gal-1-PUT bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Die eigenen Werte stimmen etwa mit denen in der Literatur beschrieben, mit dem UDP-Glucose-Konsumptionstest ermittelten Werten überein. Die auftretenden Schwankungen sind auf technische Fehler zurückzuführen, von denen die wichtigsten kurz zusammengefaßt sind: Ablesefehler am Photometer, verunreinigte Küvetten, falsches Pipettieren, nicht exakt geeichte Geräte, nicht genaues Einhalten der Inkubationszeit und Inkubationstemperatur, Fehler beim Herstellen der Reagenzlösungen und deren pH-Einstellung.

Tabelle 1

	Mittelwert	Standab.	Max. Wert	Min. Wert
1. Tag	15,02	1,12	16,41	13,72
2. Tag	16,31	0,99	17,77	15,01
3. Tag	15,66	1,23	17,06	14,22
4. Tag	15,82	1,09	16,22	14,02

2.5. Ergebnisse der eigenen Untersuchung

2.5.1. Prüfung der Einzelwerte der Gal-1-PUT auf Normalverteilung

Anhand der Untersuchungsergebnisse war es auch möglich, die Normalverteilung unter Zugrundelegung der kumulativen Häufigkeit dieser beiden Gruppen zu prüfen und zu vergleichen. Dazu wurde die Gesamtzahl der ermittelten Aktivitätswerte der Gal-1-PUT je Gruppe in 14 Klassen aufgeteilt. Die einzelnen Klassen unterscheiden sich um je 1 U/gHb Gal-1-PUT, beginnend mit 11 U/gHb bis 24 U/gHb. Werte unter 11 U/gHb wurden nicht berücksichtigt, da diese als heterozygote Merkmals-träger oder Duarte-Varianten hätten angesehen werden können. Ferner wurde die kumulative Summenhäufigkeit der einzelnen Klassen berechnet (Siehe Tabelle 2 u. 3).

Tabelle 2

Klassenliste der Probanden aus Bucsü

Klasse		Anzahl	kum. Häufigkeit	rel. kum. Häufigkeit
I	11 U	5	5	3,57 %
II	12 U	4	9	6,42 %
III	13 U	15	24	17,14 %
IV	14 U	19	43	30,71 %
V	15 U	26	69	49,28 %
VI	16 U	20	89	63,57 %
VII	17 U	14	103	73,57 %
VIII	18 U	11	114	81,42 %
IX	19 U	9	123	87,85 %
X	20 U	9	132	94,28 %
XI	21 U	4	136	97,14 %
XII	22 U	2	138	98,57 %
XIII	23 U	0	138	98,57 %
XIV	24 U	2	140	100,00%

Tabelle 3

Klassenliste der Probanden aus dem Komitat Vas

Klasse		Anzahl	kum. Häufigkeit	rel. kum. Häufigkeit
I	11 U	9	9	2,52 %
II	12 U	17	26	7,30 %
III	13 U	24	50	14,04 %
IV	14 U	41	91	25,56 %
V	15 U	52	143	40,17 %
VI	16 U	58	201	56,46 %
VII	17 U	53	254	71,34 %
VIII	18 U	47	301	84,55 %
IX	19 U	25	326	91,57 %
X	20 U	21	347	97,47 %
XI	21 U	4	351	98,59 %
XII	22 U	2	353	99,15 %
XIII	23 U	1	354	99,43 %
XIV	24 U	2	356	100,00 %

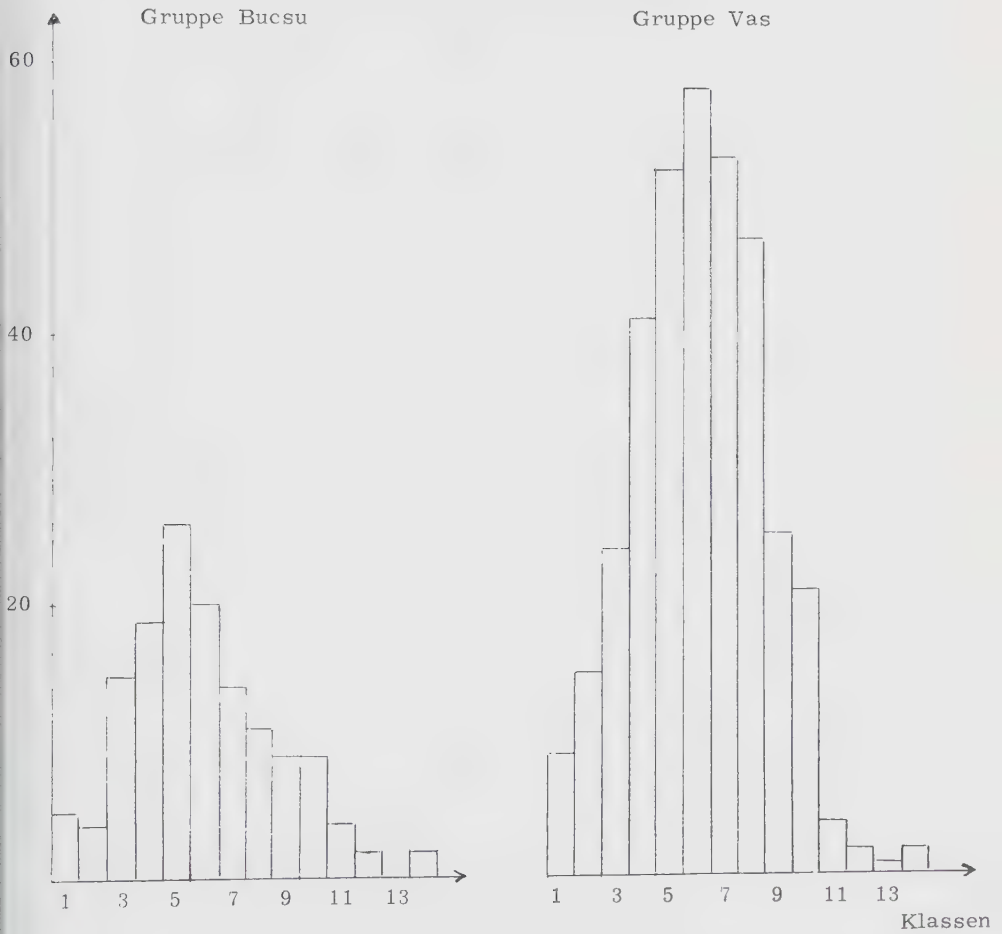


Abb. 3 : Verteilung der Einzelwerte der Gal-1-PUT im Hämolytate, aufgeteilt in 14 Klassen.

Auch die Eintragung der relativen Summenhäufigkeit (in Prozent) in Wahrscheinlichkeitspapier mit logarithmisch unterteilter Ordinate und linear aufgeteilter Abszisse ergab eine Gerade für beide Kollektive, was auf eine Normalverteilung in jeder Gruppe hinweist (Abb. 4).

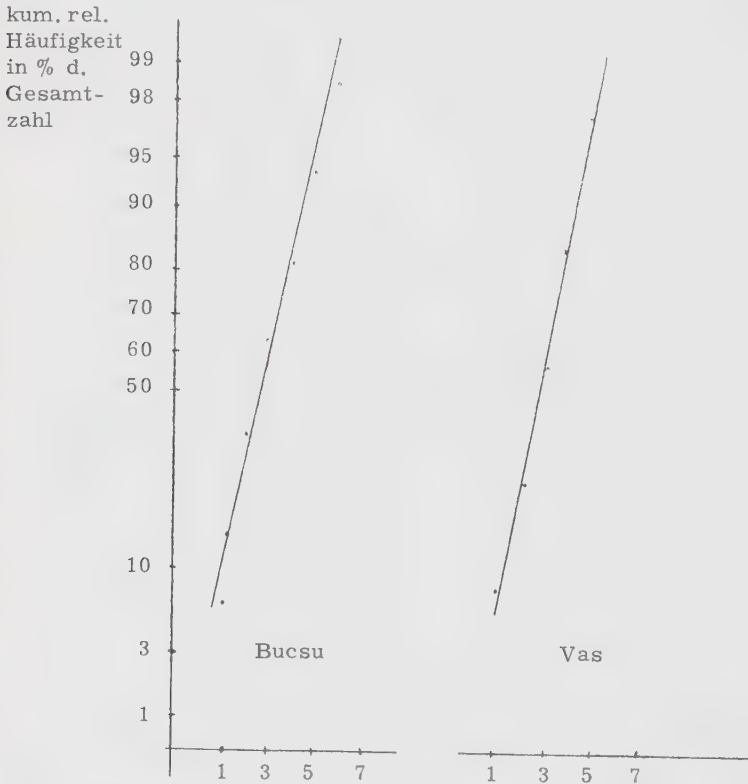


Abb. 4 : Kumulative Häufigkeit der Einzelwerte aus Bucsu und dem Komitat Vas

Vor dem Vergleich dieser beiden Stichproben wurde mit Hilfe des T-Tests nach STUDENT der Nachweis erbracht, daß sie einer gemeinsamen Grundgesamtheit entstammen. Die Aktivität der Gal-1-PUT folgt in beiden Populationsgruppen einer Normalverteilung und unterscheidet sich nicht signifikant.

Tabelle 4

Aktivität der Gal-1-PUT (U/gHb) in beiden Gruppen

Gebiet	Mittelwert	Standardabweichung
Reservat Bucsu	15,04	2,35
Komitat Vas	15,44	2,43

2.5.2. Berechnung der Genfrequenz

Eine Heterozygotie (Gt^+/gt) wurde angenommen, wenn die Aktivität der Gal-1-PUT zwischen 6,7 - 9 U/gHb lag ^{4, 14, 27, 32, 41}. Die Berechnung erfolgte nach dem Hardy - Weinberg -Gesetz ^{3, 18, 34}. Die Genhäufigkeit für Gesunde berechnet sich nach der Formel:

$$p = \frac{2 AA + Aa + aa}{2 (AA + Aa + aa)}$$

Für Kranke:

$$q = \frac{2 aa + AA}{2 (AA + Aa + aa)}$$

p = Genhäufigkeit für Gesunde

q = Genhäufigkeit für Kranke

AA = homozygot Gesunde

Aa = Heterozygote

aa = homozygot Kranke

Heterozygotenfrequenz = 2pq

Homozygotenfrequenz = $(2pq^2) \times 4$

Bei den Genfrequenzuntersuchungen im Reservat Bucsu (B) konnten unter 140 Personen 3 mit einer Enzymaktivität der Gal-1-PUT im Heterozygotenbereich gefunden werden (mit den Werten 7,9 U, 8,7 U, 8,9 U), im Komitat Vas (KV) waren es 5 unter 356 Personen.

Tabelle 5

	n	Heterozygote	Heterozygotenfrequenz	Homozyg.-Frequenz	Gen-Frequenz
B	140	3	1:47 (0,0212)	1: 8836	0,01036 (1: 94)
KV	356	5	1:71 (0,0140)	1:20164	0,00704 (1:142)
B+KV	496	8	1:62 (0,0161)	1:15376	0,00806 (1:124)

Ohne Berücksichtigung der möglichen Duarte-Variante ergibt sich für die untersuchten Probanden in Bucsu eine Genfrequenz von 0,01063 und im Komitat Vas eine Genfrequenz von 0,00704. Da ein geistig retardierter Proband und zwei Patienten mit Katarakten Enzymwerte der Gal-1-PUT im Bereich des errechneten Mittelwertes aufwiesen, wurden sie zur Berechnung der Genfrequenz mit einbezogen.

3. DISKUSSION

Das Vorliegen eines autosomal-rezessiven Erbganges bei der Galaktosämie gilt heute als gesichert. Dies geht vor allem aus den populationsgenetischen Arbeiten von HUGH-JONES et al. hervor²⁴⁾. Diese Autoren konnten anhand ihrer Analysen von 124 Fällen aus 93 Familien zeigen, daß die gefundene Anzahl von Merkmalsträgern in den Geschwisterschaften mit den Erwartungen übereinstimmen. Die bei diesem Erb-leiden recht hohe Konsanguinitätsrate steht dabei im Einklang mit der niedrigen Genhäufigkeit.

Diese Aussage ist jedoch nicht mit den hier gefundenen Ergebnissen zu vereinbaren, obwohl das untersuchte Probandengut aus einer relativ homologen Bevölkerung stammte. Leider bestand nicht die Möglichkeit zu Familienuntersuchungen und damit war auch die Konsanguinitätsrate nicht zu ermitteln. Doch ist anzunehmen, daß diese auf Grund der vorliegenden Ergebnisse im Reservat Buscu relativ hoch ist.

Die Literaturangaben über die Häufigkeit des Gal-1-PUT-Defektes variieren erheblich. Man muß hierbei aber berücksichtigen, daß nicht immer die gleichen Untersuchungsmethoden zugrunde lagen. HANSEN und Mitarbeiter stellten bei Galaktosämiefrequenzuntersuchungen im Staate Michigan ein Verhältnis 1:45 fest, was etwa einer Homozygotenhäufigkeit für die Galaktosämie von etwa 1:8000 entspricht¹²⁾. Eine Heterozygotenfrequenz von 1:50 fand BRANDT in Kopenhagen. Aus dieser Frequenz läßt sich eine Galaktosämiehäufigkeit von ca. 1:10 000 berechnen^{10, 11)}. BEUTLER et al. fanden in Kalifornien nur einen Heterozygoten unter 72 Normalen, was einer Homozygotenfrequenz von 1:25 000 entspricht⁷⁾. Noch höhere Werte finden sich bei KELLY et al., die eine Homozygotenfrequenz von 1:35 000 fanden³⁰⁾.

KALOUD und SITZMANN ermittelten anhand von 1793 Probanden aus der Steiermark und Erlangen eine Homozygotenfrequenz von 1 : 12 100 (St) und 1 : 28 900 (Er). Die in diesen Gebieten gefundenen Hetero-

zygotenfrequenzen betragen demnach 1 : 55 in der Steiermark und 1 : 85 in Erlangen ²⁸⁾. Interessant zum Vergleich mit den eigenen Ergebnissen aus Südwestungarn sind neben den Befunden aus der Steiermark die Befunde von Thalhammer und Schreiber ⁵⁴⁾. Sie fanden für Ost-Österreich eine Homozygotenfrequenz von 1 : 43 000 und für West-Österreich eine solche von 1 : 1 300, welche deutlich höher liegt als die jetzt in Südwest-Ungarn erstellte Frequenz. SHIH et al. nehmen dagegen an, daß die bisher angegebenen Heterozygotenfrequenzen viel zu hoch liegen. Sie fanden mit zwei verschiedenen Screening-Methoden unter 374 341 Normalen nur 2 Patienten mit Galaktosämie. Die daraus resultierende Homozygotenfrequenz beträgt demnach nur 1 : 187 000, was einer Heterozygotenfrequenz von 1 : 216 entspricht ⁴⁷⁾.

In der folgenden Tabelle 6 sind einige wichtige Ergebnisse solcher Frequenzanalysen zusammengefaßt.

Tabelle 6

	Heterozygoten- Frequenz	Homozygoten- Frequenz	Gen- Frequenz
1. Kaloud (Steierm.)	1 : 55	1 : 12100	0,0092
2. Sitzmann (Franken)	1 : 85	1 : 28900	0,0059
3. Hansen (Michigan)	1 : 67	1 : 17000	0,0075
4. Brandt (Kopenhag.)	1 : 68	1 : 19000	0,0074
5. Beutler (Californ.)	1 : 80	1 : 25000	0,0063
6. Kelly (Staat New York)	1 : 94	1 : 35000	0,0053
7. Thalhammer (Wien)	1 : 82	1 : 27000	0,0061
8. Schwarz (Manchest.)	1 : 134	1 : 72000	0,0037

	Heterozygoten- Frequenz	Homozygoten- Frequenz	Gen- Frequenz
9. Shih (Massachus.)	1 : 216	1 : 187000	0,0023
10. Ellis (Sheffield)	1 : 250	1 : 250000	0,002

Die bei unseren Untersuchungen gefundenen Heterozygotenfrequenzen betragen für das Reservat Bucsu 1:47 und für das Komitat Vas 1:71. Diese hohe Heterozygotenfrequenz wurde erwartet, da das erfaßte Probandengut aus einer relativ homologen, abgeschlossenen Bevölkerung stammte. Es fanden nahezu keine Einwanderungen in dieses Gebiet statt, so daß man annehmen kann, daß dort die Konsanguinität besonders häufig sein dürfte. BICKEL und CLEVE berichteten von gehäuften Auftreten der Galaktosämie bei Verwandtenehen der Eltern⁸⁾. In letzter Zeit wurde öfter von Verwandtenehen berichtet, deren Kinder Galaktosämiker waren.

Die meisten Angaben über Genfrequenzanalysen der Galaktosämie dürften etwas zu hoch liegen, da bei diesen Angaben die sogenannte Duarte-Variante nicht berücksichtigt wurde. Auch bei diesen hier dargelegten Ergebnissen wurden die Duarte-Variante und die Heterozygotenmerkmalsträger zu einem Kollektiv zusammengefaßt, woraus eine erhöhte Frequenz resultiert.

Die Duarte-Variante wurde 1965 von BEUTLER zum ersten Mal beschrieben. Hierbei handelt es sich um eine genetische Variante des Galaktose-1-Phosphaturidyltransferase-Mangels. Die Heterozygoten des partiellen Enzymdefektes besitzen ungefähr 75 % der normalen Aktivität und die Homozygoten 50 %, also gleichviel wie die Heterozygoten des Galaktosämiegens. Betrachtet man die Fermentaktivität als das einzige Kriterium, dann ist es nicht möglich, die zwei verschiedenen Gene zu unterscheiden und es kommt unweigerlich zur Erhöhung der Frequenz.

Aus diesem Grund weist BEUTLER mit Recht darauf hin, daß die bisher angegebenen Werte zu hoch seien. Nach den Schätzungen BEUTLERs sind 10-15 % der Bevölkerung Heterozygote der Duarte-Variante, was einer Genfrequenz von 7,1 % entspricht ⁵⁾. Auch MELLMAN und TEDESCO berichten von einer Genfrequenz für heterozygote Merkmals-träger der Duarte-Variante von etwa 8 % der Bevölkerung gegenüber der von etwa 1 % für Heterozygote der klassischen Galaktosämie ³⁶⁾. Ein Beweis für die Existenzberechtigung des Duarte-Typus ist die Identifizierung der beiden Gene bei einer Person. Auch KALOUD und SITZMANN berichteten von Probanden diesen Typs in einer Familie ²⁸⁾. Bezeichnet man das normale Transferase-Gen als Gt^+ , das Galaktosämie-Gen mit gt und das Duarte-Gen mit Gt^D , dann sind folgende Kombinationen möglich:

Gt^+/Gt^+	:	100 % der normalen Enzymaktivität
Gt^D/Gt^+	:	75 % der normalen Enzymaktivität
Gt^D/Gt^D	:	50 % der normalen Enzymaktivität (homozygot der Duarte-Variante)
Gt^+/gt	:	50 % der normalen Enzymaktivität
Gt^D/gt	:	25 % der normalen Enzymaktivität
gt/gt	:	0 % der normalen Enzymaktivität

Tatsächlich gibt es unter den als Heterozygoten der Galaktosämie angesehenen vereinzelte Familienmitglieder, deren Erythrocyten nur ungefähr 25 % der normalen Transferaseaktivität an Stelle der zu erwarteten 50 % besaßen.

Eine genotypisch separate Gruppe von galaktosämischen Patienten, deren klinische Erscheinungen vom klassischen Bilde nur gering abweichen, aber biochemisch weitgehende Unterschiede aufweisen, ist die von SEGAL beschriebene "Negro-Variante" ⁴⁴⁾. Die Probanden zeigen einen Mangel oder vollständiges Fehlen der Gal-1-PUT in den Erythrozyten, sind jedoch in der Lage, Galaktose in der Leber ausreichend in Glucose umzusetzen. Daß trotzdem Krankheitserscheinungen der Galaktoseintoleranz

während des Säuglingsalters auftreten, ließe sich wohl so erklären, daß die Galaktosezufuhr zu diesem Zeitpunkt die vorhandene Stoffwechselkapazität überschritt.

CHACKO beschrieb 1971 eine weitere Variante der Galaktosämie, nämlich die "Indiana-Variante" ¹³⁾. Sie zeichnet sich durch eine auffallende Instabilität des Enzyms Gal-1-PUT aus, welches normalerweise sehr stabil ist. Die Anfangsaktivität der Gal-1-PUT im Hämolysat sank innerhalb von 36 Stunden auf einen nicht mehr meßbaren Wert ab.

SCHAPIRA und KAPLAN berichteten 1969 von der "Rennes-Variante" ⁴³⁾ und NG von der "Los Angeles-Variante" ³⁷⁾. Im Gegensatz zu der Indians- und der Rennes-Variante sind die Duarte- und die Los Angeles-Varianten nicht mit klinischen Symptomen verbunden.

BRANDT et al. zeigten, daß Patienten mit mongoloider Oligophrenie 40 % mehr Transferaseaktivität in ihren Erythrozyten aufweisen als normale Individuen ⁹⁾. In einer Reihe von Veröffentlichungen wurde dies bestätigt und die Hypothese weiterhin unterstützt, daß das Kontrollgen der Uridyltransferase am Chromosom 21 lokalisiert sei, was inzwischen aber widerlegt wurde. Andere Autoren waren hingegen schon immer der Meinung, daß auf Grund dieser Tatsachen keine Schlüsse auf die Lokalisation des Gens gezogen werden dürften.

Kürzlich wurden zwei Veröffentlichungen über den Verlauf der Schwangerschaft bei homozygoten, galaktosämischen Frauen bekannt, die von praktischem als auch theoretischem Interesse sein dürften. In diesem Zusammenhang sei auf die Originalarbeiten von ROE et al. ⁴²⁾ und TEDESCO et al. ⁵³⁾ verwiesen.

Beide Autoren berichten von homozygoten, galaktosämischen Negerinnen, die klinisch gesunde Kinder gebären. Die Uridyltransferaseaktivität der Neugeborenen lag im Bereich der Heterozygoten. Die für die Leibesfrucht nötige Galaktose wurde aus Glucose synthetisiert, da die Mütter während der Schwangerschaft keine Galaktose zu sich nahmen. Daß ROE et al. trotzdem Laktose in der Muttermilch fanden, bestätigt frühere Untersu-

chungen, die zeigten, daß Galaktose-1-Phosphaturidyltransferase nicht zur Synthese der Laktose erforderlich ist ⁴⁴⁾. Noch zu erwähnen sei, daß bei beiden Frauen ein Laktase-Mangel festgestellt wurde, der ihre Leibesfrucht vor der Toxizität der Galaktose geschützt haben könnte. Ein solcher Laktase-Mangel wurde bei 60-70 % schwarzer Erwachsener festgestellt ²⁾.

Die Bedeutung solcher, aus begrenzten Regionen errechneter Frequenzanalysen darf nicht überschätzt und als allgemein gültige Aussage über die Häufigkeit eines bestimmten Stoffwechselleidens gewertet werden, da die Zahl der Probanden meist zu gering ist und die zufällige Auffindung eines weiteren Heterozygoten das Ergebnis entscheidend verändern kann.

Dies soll kurz anhand eines Rechenbeispiels aufgezeigt werden. Wäre im Reservat Bucsú nur ein Heterozygoter weniger gefunden worden, so wäre die Heterozygotenfrequenz von 1:47 auf 1:70 abgefallen; ein Heterozygoter mehr hätte die Heterozygotenfrequenz auf 1:35 erhöht. Man sieht hier deutlich, wie weit die Ergebnisse bei Erfassung eines einzigen Heterozygoten, mehr oder weniger, erheblich streuen können, wenn die Gesamtzahl der Probanden gering ist. Eine verlässlichere Aussage läßt sich für das Komitat Vas machen, da dort die Anzahl der untersuchten Personen etwa dreimal so groß war wie die für Bucsú. Dennoch zeigt diese Untersuchung deutlich die erheblichen regionalen Schwankungen in der Genverbreitung. Zur eingangs gestellten Frage kann wie folgt Stellung bezogen werden:

Im Reservat Bucsú fanden sich mehr Heterozygote, was einmal auf die vermehrt vorkommenden Verwandtenehen zurückzuführen ist, und zum anderen zusätzlich auf die mögliche, nicht bewiesene Tatsache, daß bei Zigeunern das Galaktosämiegen häufiger anzutreffen sei, eben wegen gehäufte Blutverwandtschaften. Wahrscheinlich gilt dies auch für andere autosomal-rezessive Erb-leiden.

Im Komitat Vas, der normalen ungarischen Bevölkerung, liegt die Genfrequenz mit 0,007 niedriger, sogar noch niedriger als in der angrenzenden österreichischen Steiermark mit 0,0092 . Es besteht also eine deutlich unterschiedliche Genfrequenz zwischen der ungarischen Bevölkerung im Komitat Vas (Südwest-Ungarn) und der Bevölkerung des Reservats (Isolats) Bucsú.

4. ZUSAMMENFASSUNG

In 496 Blutproben von Einwohnern aus Südwest-Ungarn wurde die Aktivität der Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase untersucht, um die Heterozygoten- bzw. Genfrequenz der Galaktosämie zu berechnen. Die Probanden entstammen zwei ethnologisch unterschiedlichen Gruppen: 140 aus dem Reserat (Isolat) Bucsú (Zigeunerbevölkerung) und 356 aus dem Komitat Vas (ungarische Bevölkerung). Es sollte die Frage beantwortet werden, ob sich die Genfrequenz der Bewohner von Bucsú deutlich von derjenigen der Umgebung, dem Komitat Vas, unterscheidet. Für die Vermutung, daß die Genfrequenz im Reservat Bucsú viel höher ist, sprach die relative Abgeschlossenheit und die wenigen Einheiratungen bzw. vermehrte Blutsverwandtschaft in diesem Gebiet. Im Reservat Bucsú (B) fanden sich unter 140 Personen 3 mit einer Enzymaktivität der Gal-1-PUT zwischen 6,7 - 9 U/gHb (Heterozygotenbereich), im Komitat Vas (KV) 5 unter 356 untersuchten Personen. Die Heterozygotenfrequenz beträgt demnach 1:47 (B) bzw. 1:71 (KV) mit entsprechenden Genfrequenzen von 0,01063 (B) bzw. 0,00704 (KV). Diese Untersuchungsergebnisse bestätigen die Vermutung, daß im Reservat Bucsú vermehrt das Galaktosämiegen vorkommt und demonstriert die regionalen Schwankungen in der Genverbreitung. Dennoch dürften die gefundenen Frequenzen um 10 % zu hoch liegen, da mögliche Duarte-Varianten und die Heterozygoten in einem Kollektiv zusammengefaßt wurden und weitere Varianten mit der Aktivitätsbestimmung nicht von den Heterozygoten der klassischen Galaktosämie zu trennen sind.

5. LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Andersen, E.P., Kalckar, H.M., Kurahashi, K.,
Isselbacher, K.H. :
A specific enzymatic assay for the diagnosis of congenital galactosemia.
J. Lab. clin. Med. 50, 469 (1957)
- 2) Bayless, T.M., Rosenweig, N.S. :
Incidence and implications of lactase deficiency and milk intolerance
in white and Negro populations.
John-Hopkins Med. J. 121, 121 (1967)
- 3) Becker, P.E. :
Humangenetik (Handbuch), Bd. V/2.
Stuttgart: Thieme (1967)
- 4) Beutler, E., Baluda, M.C., Donnell, G.N. :
A new method for the detection of galactosemia and its carrier state.
J. Lab. clin. Med. 64, 694 (1964)
- 5) Beutler, E., Baluda, M.C., Sturgeon, P., Day, R.W. :
The Duarte variante of galactose-1-phosphate uridylyltransferase:
a prevalent allele of gene for galactosemia.
J. Clin. Invest. 44, 1028 (1965)
- 6) Beutler, E., Baluda, M.C. :
Improved method for measuring galactose-1-phosphate uridylyltrans-
ferase in erythrocytes.
Clin. chim. Acta 13, 369 (1966)
- 7) Beutler, E., Irwin, H.R., Blumenfeld, C.M., Goldenburg, E.W.,
Day, R.W. :
Field test of galactosemia screening methods in newborn infants.
J. Am. Med. Ass. 199, 161 (1967)
- 8) Bickel, H., Cleve, H. :
Metabolische Schwachsinnformen.
Humangenetik (Handbuch), Bd. V/2, 251 (1967)

- 9) Brandt, N.J., Froland, A., Mikkelsen, M., Nielsen, A.,
Tolstrup, N. :
Galactosemia Locus and the Down's Chromosome.
Lancet. II, 700 (1963)
- 10) Brandt, N.J., Tolstrup, N. :
Problems in the diagnosis of hereditare galactosemis.
Acta paediat. scand. 56, 85 (1967)
- 11) Brandt, N.J. :
Frequency of heterozygotes for hereditary galactosemia in a normal polulation.
Acta paediat. scand. 58, 325 (1969)
- 12) Bretthauer, R.K., Hansen, R.G., Donnell, G., Bergren, W.R. :
A procedure for detecting carriers of galactosemia.
Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 345, 328 (1959)
- 13) Chacko, M.C., Christian, J.C., Nadler, H.L. :
Unstable galactose-1-phosphat uridyltransferase: A new variant of galactosemia.
J. Pediat. 78, 454 (1971)
- 14) Donnell, G.N., Bergren, W.R., Bretthauer, R.K., Hansen, R.G. :
The enzymatic expression of the heterozygosity in families of children with galactosemia.
Pediatrics 25, 572 (1960)
- 15) Ellis, G., Willcock, A.R., Goldberg, D.M. :
Experience of routine live birth screening for galactosemia in a birth hospital, with emphasis on heterozygote detection.
Arch. Dis. Childh. 47, 34 (1972)
- 16) Fischer, W., Weinland, H. :
Stoffwechsel der Galaktose und ihrer Derivate.
Thieme, Stuttgart (1965)

- 17) Flekova, M. :
Ein Fall von Galaktosämie mit *Hydrocephalus communicans*.
Dtsch. Ges.-wesen. 18, 60 (1963)
- 18) Fuhrmann, W. :
Taschenbuch der allgemeinen und klinischen Humangenetik.
Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft (1965)
- 19) Gitzelmann, R., Hadorn, B. :
Zur biochemischen Genetik der Galaktosämie.
Acta paediat. helv. 16, 4 (1961)
- 20) Göppert, F. :
Galaktosurie nach Milchzuckergabe bei angeborenem familiärem,
chronischem Leberleiden.
Berl. klin. Wschr. 54, 473 (1917)
- 21) Grüner, H.D. :
Stoffwechselbedingte Schwachsinnformen und ihre Erkennung.
Z. klin. Chemie 3, 123 (1966)
- 22) Hansen, R.G., Bretthauer, R.K., Mayes, J., Nordin, J.H. :
Estimation of frequency of occurrence of galactosemia in the
population.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 115, 560 (1964)
- 23) Holzel, A. :
Handbuch der inneren Medizin. Bd. VII.
Berlin: Springer (1974)
- 24) Hugh-Jones, K., Newcomb, A.L., Hsia, D.Y-Y. :
The genetic mechanism of galactosemia.
Arch. Dis. Childh. 35, 521 (1960)
- 25) Kalckar, H.M., Anderson, E.P., Isselbacher, K.J. :
Galactosemia; a congenital defect in a nucleotid transferase.
Biochem. Biophys. Acta 20, 262 (1956)

- 26) Kaloud, H. , Sitzmann, F. C. :
 Ergebnisse klinischer und biochemischer Untersuchungen bei einer Sippe mit Erkrankungen an Galaktosämie.
 Beiheft 64, Arch. Kinderheilk. , Enke-Verlag, Stuttgart (1971)
- 27) Kaloud, H. , Sitzmann, F. C. :
 Die Aktivität der Galaktose-1-phosphat-Uridyltransferase in den Erythrozyten bei Heterozygoten der Galaktosämie in verschiedenen Altersstufen.
 Pädiat. Pädol. 6, 268 (1971)
- 28) Kaloud, H. , Sitzmann, F. C. :
 Genfrequenz der hereditären Galaktosämie unter Berücksichtigung der Duarte-Variante.
 Z. Kinderheilk. 113, 205 (1972)
- 29) Kaloud, H. , Sitzmann, F. C. , Teubl, I. :
 Die Aktivität des Enzyms Galaktose-1-Phosphaturidyltransferase in den Erythrozyten gesunder Kinder und Erwachsener.
 Klin. Pädiat. 185, 12 (1973)
- 30) Kelley, S. , Katz, S. , Burns, J. , Boylan, J. :
 Screening for galactosemia in New York State.
 Public Health Reports, Vol. No. 7, 575 (1970)
- 31) Kirkmann, H. N. , Bynum, E. :
 Enzymatic evidence of a galactosemic trait in parents of galactosemic children.
 Ann. Hum. Genet. 23, 117 (1959)
- 32) Kirkmann, H. N. , Kalckar, H. M. :
 Enzymatic deficiency in congenital galactosemia and its heterozygous carriers.
 Ann. N. Y. Acad. Sci. 75, 274 (1958)

- 33) Komrower, G.M., Schwarz, V., Holzel, A., Golberg, L. :
A clinical and biochemical study of galactosemia. A possible
explanation of the nature and biochemical lesion.
Arch. Dis. Childh. 31, 254 (1956)
- 34) Lenz, W. :
Medizinische Genetik. Grundlagen, Ergebnisse und Probleme,
2. Aufl., Stuttgart: Thieme (1970)
- 35) Mayer, I.S., Hansen, R.G. :
Galactose-1-phosphaturidyltransferase. In: Colowick, S.P.,
Caplan, N.O. : Methods in Enzymology IX, 708 und 713.
Academic Press, Inc., New York / London (1966)
- 36) Mellman, W.J., Tedesco, T.A., Baker, L. :
A new genetic abnormality resulting in galactose-1-phosphate
uridyltransferase deficiency.
Lancet I/1395 (1965)
- 37) Ng, W.G., Bergren, W.R., Donnell, G.N. :
A new variant of galactose-1-phosphate uridyltransferase in man:
the Los Angeles variant.
Ann. Hum. Genet. 37, 1 (1973)
- 38) Orlina, A.R., Josephson, A.M. :
Comparative variability of blood stored in ACD and CPD.
Transfusion 9, 62 (1969)
- 39) Quan-Ma, R., Welly, W.W. :
The distribution of galactitol in tissues of rats fed galactose.
Biochem. biophys. Res. Commun. 20, 486 (1965)
- 40) Reuss, A. von:
Zuckerausscheidung im Säuglingsalter.
Wien. med. Wschr. 58, 799 (1908)

- 41) Robinson, A. :
The assay of galactokinase and galactose-1-phosphate uridyltransferase activity in human erythrocytes.
J. expl. Med. 118, 359 (1963)
- 42) Roe, T.F., Hallat, J.G., Donnell, G.N., Ng, W.G. :
Childbearing by a galactosemic woman.
J. Pediatr. 78, 1026 (1971)
- 43) Schapira, F., Kaplan, J.C. :
Electrophoretic abnormality of galactose-1-phosphate uridyltransferase in galactosemia.
Biochem. biophys. Res. Commun. 35, 451 (1969)
- 44) Segal, S., Blair, A., Topper, Y.J. :
Oxidation of carbon 14 labeled galactose by subjects with congenital galactosemia.
Science 136, 150 (1962)
- 45) Segal, S., Cuartrecasas, P. :
Galactose conversion to D-xylose: an alternate route of galactose metabolism.
Science 153, 549 (1966)
- 46) Shatton, J.B., Bruenstein, M., Shay, H., Weinhouse, S. :
Enzymes of galactose synthesis in mammary gland and mammary tumors of the rat.
J. Biol. Chem. 240, 22 (1965)
- 47) Shih, V.E., Levy, H.I., Karolkewicz, V., Houghton, S., Efron, M.L., Isselbacher, K.J., Beutler, E., MacCready, R.A. :
Galactosemia screening of newborns in Massachusetts.
New. Engl. J. Med. 284, 753 (1971)
- 48) Sitzmann, F.C. :
Unsere heutigen Kenntnisse über die Galaktosämie.
Med. Klin. 63, 781 (1968)

- 49) Sitzmann, F.C., Kaloud, H.:
Enzymopathien des Galaktosestoffwechsels.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 55, 385 (1971)
- 50) Sitzmann, F.C., Kaloud, H.:
Das Krankheitsbild der Galaktosämie.
Klinikerzt 1, 122 (1972)
- 51) Schreier, K.:
Die angeborenen Stoffwechselanomalien.
Stuttgart: Thieme (1963)
- 52) Schwarz, V.:
A simplified diagnostic test for the galactosemia.
J. Lab. Clin. Med. 56, 483 (1960)
- 53) Tedesco, Th.A., Morrow III G., Mellman, W.J.:
Normal pregnancy and childbirth in a galactosemic woman.
J. Pediatr. 81, 1159 (1972)
- 54) Thalhammer, O., Schreiber, V.:
Untersuchung über die Häufigkeiten angeborener Stoffwechsel-
anomalien in Ost- und West-Österreich.
Humangenetik 15, 145 (1972)
- 55) Weinberg, A.N.:
Detection of congenital galactosemia and the carrier state using
galactose-C¹⁴ and blood cells.
Metabolism 10, 728 (1961)

Herrn Professor Dr. med. A. W i n d o r f e r danke
ich für die Möglichkeit der Durchführung der Arbeit an
seiner Klinik.

Herrn Professor Dr. med. F. C. S i t z m a n n dan-
ke ich für die freundliche Überlassung des Themas und
die wertvolle Hilfe bei der Ausarbeitung.

LEBENS LAUF

Am 27. Mai 1947 wurde ich als einziges Kind der Eheleute Johann Schwindler und Berta Schwindler, geb. Keilhammer, in Neunburg vorm Wald, Landkreis Schwandorf, geboren.

Nach fünfjährigem Besuch der Volksschule in Neunburg v. Wald wechselte ich an das Gymnasium. Im Jahre 1968 legte ich am Regental-Gymnasium in Nittenau die Reifeprüfung ab. Anschließend folgte eine zweijährige Apothekerpraktikantenzeit, die mit der Pharmazeutischen Vorprüfung im März 1971 abschloß.

Seit dem 31. Juli 1973 bin ich mit Eva Schwindler, geb. Gillitzer, verheiratet.

Im Wintersemester 1971/72 nahm ich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg das Studium der Zahnmedizin auf.

Am 17. August 1972 bestand ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 25. März 1974 die zahnärztliche Vorprüfung.

Das Studium der Zahnmedizin habe ich am 6. Dezember 1976 mit dem Staatsexamen abgeschlossen.

Erlangen, im Dezember 1976

Georg Johann Schwindler

Buchdruck – Offsetdruck

Karl Döres, 852 Erlangen, Jägerstr. 3 · Tel. 2 15 21